

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: 24520101153377

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

细胞周期进程中 Cx43 蛋白和 AKAP95 蛋白  
相互作用关系的研究

The Study on Interaction among Cx43 And AKAP95 in The  
Cell Cycle Progression

张素慧

指导老师姓名: 张 永 兴

专 业 名 称: 药物化学

论文提交日期: 2013 年 5 月

论文答辩时间: 2013 年 6 月

学位授予日期: 2013 年 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2013 年 6 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

- (        )1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于  
      年    月    日解密，解密后适用上述授权。
- (        )2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

      年    月    日

## 摘要

细胞的分裂和增殖依赖于细胞周期的精确调控。Cx43 蛋白是一种可通过控制细胞周期来抑制肿瘤的蛋白。AKAP95 蛋白与细胞周期密切相关，可与细胞周期蛋白相互结合。AKAP95 蛋白是 PKA 的锚定蛋白，PKA 可磷酸化 Cx43 蛋白的丝氨酸位点。

为了研究细胞周期不同时相下 AKAP95 蛋白与 Cx43 蛋白的相互作用关系，选用了 L-O2 细胞和 A549 细胞。为实现细胞的同步化，选用了含羞草碱、阿菲迪霉素、噻氨酯吡啶和秋水仙碱四种细胞周期阻断试剂，分别将细胞阻断于 G1、S、G2 和 M 期，同时用流式细胞术和细胞免疫荧光法测定四种试剂的阻断效率。在 A549 细胞中，采用细胞免疫荧光方法观察细胞不同时相下 AKAP95 蛋白与 Cx43 蛋白的定位和共定位，用免疫印迹和免疫共沉淀实验来研究两种蛋白在细胞周期各个时相下的表达量及相互作用关系。在 L-O2 细胞中，用免疫印迹和免疫共沉淀实验来研究两种蛋白在细胞周期各个时相下的定位、表达量及相互作用关系。通过实验发现，Cx43 蛋白和 AKAP95 蛋白在两种细胞中均存在相互作用关系，且相互作用主要存在于分裂期。两种蛋白的定位和表达量随着细胞周期的进行而发生变化，且在两种细胞内的变化不相同。

为了研究 PKA 的活性对 Cx43 蛋白和 AKAP95 蛋白相互作用的影响，选用了 PKA 抑制剂 H-89 和 PKA 激活剂 Foscrolin 分别处理 A549 细胞，细胞免疫荧光实验进行检测。经过实验发现 PKA 活性不改变 A549 细胞中 AKAP95 蛋白与 Cx43 蛋白的定位情况，但 PKA 活性可影响有丝分裂过程中这两种蛋白的结合作用。

**关键词：**Cx43；AKAP95；细胞周期； PKA

## Abstract

Division and proliferation of tumor cells depends on the precise control of the cell cycle. Cx43 protein inhibits tumor through controlling the cell cycle. AKAP95 protein is closely related to cell cycle, and AKAP95 protein can be combined with cell cycle proteins. AKAP95 protein is a anchored proteins of PKA, PKA can phosphorylate serine of Cx43 protein.

In order to study the interaction of AKAP95 protein and Cx43 protein at different cell cycle phases, we selected L-O2 cell and A549 cell. To achieve cell synchronization, we chose four kinds cell cycle blocking agent:mimosine, aphidicolin, nocodazole and colchicine. The cells were blocked in G1, S, G2 and M phases while using flow cytometry and immunofluorescence method for the determination of four reagents blocking efficiency. In A549 cell, we use immunofluorescence experenment to obeserv the localization and co-localization of AKAP95 protein and Cx43 protein yn the cell cycle progress. Through immunoblotting and co-immunoprecipitation experiments, we study the expression and interaction of the two proteins in the cell cycle progress. In L-O2 cell, we use immunoblotting and immunoprecipitation experiments to study the location, expression and interactionof the two proteins in the cell cycle progression., We found that Cx43 protein interacts with AKAP95 protein in A549 cell and L-O2 cell. And their interactions mainly extend in mitosis. Location and expression of the two proteins changes with the cell cycle progression, and the changes in both cells are not the same through experiments.

In order to study the activity of PKA weather or not influence the interaction of AKAP95 protein and Cx43 protein protein, we chose the PKA inhibitor H-89 and PKA activator Foskolin to treat A549 cells, and immunofluorescence experiment for testing. The study showed that PKA activity can not change the location of AKAP95 protein Cx43 protein in A549 cellslocalization, but can affect combination effects of these two proteins during mitosis.

**Key words:** Cx43; AKAP95; cell cycle; PKA

## 缩略词表

缩略词	英文全称	中文全称
Cx43	Connexin 43	间隙连接蛋白 43
GJ	Gap junction	细胞间隙连接
GJIC	Gap junction intercellular communication	细胞间隙连接通讯
CDK	Cyclin-dependent kinases	周期蛋白依赖性蛋白激酶
cAMP	Cyclic Adenosine monophosphate	环磷酸腺苷
PKA	cAMP-dependent protein kinase A	cAMP 依赖性蛋白激酶 A
AKAP95	A-kinase anchoring protein 95	蛋白激酶 A 锚定蛋白 95
FCM	Flow cytometry	流式细胞术
IFA	immunofluorescence	免疫荧光
CO-IP	Co-immunoprecipitation	免疫共沉淀
DMSO	Dimethyl sulfoxide	二甲基亚砜
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole	4',6-二脒基-2-苯基吲哚
PMSF	Phenylmethanesulfonyl fluoride	苯甲基磺酰氟
BSA	Bovine Serum Albumin	牛血清白蛋白
FITC	Fluorescein Isothiocyanate	异硫氰酸荧光素
TXRD	Texas Red	德克萨斯红荧光素
SDS	Sodium dodecyl sulfate	十二烷基硫酸钠
Tris	Hydroxymethyl aminomethane	三羟基甲基氨基甲烷
DTT	Dithiothreitol	二硫苏糖醇
AP	Ammonium persulphat	过硫酸铵
TEMED	N, N, N', N'-tetramethylethylenediamine	N, N, N', N'-四甲基乙二胺
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis	十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳

# 目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	II
缩略词表.....	III
第 1 章 前 言 .....	1
1.1 细胞周期.....	1
1.1.1 细胞周期的不同时相.....	1
1.1.2 细胞同步化.....	3
1.1.3 细胞周期阻断试剂.....	4
1.2 Cx43 蛋白 .....	5
1.3 AKAP95 蛋白 .....	7
1.4 PKA.....	10
1.5 本论文的目的、研究内容和意义.....	10
第 2 章 A549 细胞中 Cx43 蛋白和 AKAP95 蛋白在细胞周期进程中的 相互作用关系的研究 .....	12
2.1 实验材料.....	12
2.1.1 实验细胞株.....	12
2.1.2 主要试剂及耗材.....	12
2.1.3 主要仪器及设备.....	13
2.1.4 主要溶液的配制.....	14
2.2 实验方法.....	16
2.2.1 细胞培养.....	16
2.2.2 免疫荧光.....	16
2.2.3 细胞周期阻断试剂处理细胞.....	17
2.2.4 流式细胞术测定细胞周期.....	17
2.2.5 分离细胞浆与细胞核.....	18
2.2.6 测定蛋白浓度.....	18
2.2.7 Western Blot.....	18

2.2.8 免疫共沉淀.....	19
<b>2.3 结果.....</b>	<b>19</b>
2.3.1 A549 细胞中 Cx43 蛋白和 AKAP95 蛋白在细胞周期的各个时相下的定位与共定位情况.....	19
2.3.2 A549 细胞中四种细胞周期阻断试剂的阻断效果.....	21
2.3.3 细胞浆蛋白和核蛋白的分离.....	24
2.3.4 绘制标准蛋白曲线图.....	24
2.3.5 A549 细胞中 Cx43 蛋白和 AKAP95 蛋白在细胞周期的各个时相下的表达情况.....	25
2.3.6 A549 细胞中 Cx43 蛋白和 AKAP95 蛋白在细胞周期的各个时相下的相互结合关系.....	28
<b>2.4 讨论.....</b>	<b>29</b>
<b>2.5 结论.....</b>	<b>30</b>
<b>第 3 章 L-O2 细胞中 Cx43 蛋白和 AKAP95 蛋白在细胞周期进程中的相互作用关系的研究 .....</b>	<b>31</b>
<b>3.1 实验材料.....</b>	<b>31</b>
3.1.1 实验细胞株.....	31
3.1.2 主要试剂及耗材.....	31
3.1.3 主要仪器及设备.....	31
3.1.4 主要溶液的配制.....	31
<b>3.2 实验方法.....</b>	<b>32</b>
3.2.1 细胞的培养.....	32
3.2.2 细胞周期阻断试剂处理 L-O2 细胞.....	32
3.2.3 流式细胞术测定细胞周期.....	32
3.2.4 免疫荧光.....	32
3.2.5 Western Blot.....	32
3.2.6 免疫共沉淀.....	32
<b>3.3 结果.....</b>	<b>32</b>
3.3.1 L-O2 细胞中四种细胞周期阻断试剂的阻断效果.....	32
3.3.2 L-O2 细胞中 Cx43 蛋白和 AKAP95 蛋白在细胞周期各个时相下的表达情况.....	34
3.3.3 L-O2 细胞中 Cx43 蛋白和 AKAP95 蛋白在细胞周期各个时相下的相互结合关系.....	38
<b>3.4 讨论.....</b>	<b>38</b>



3.5 结论 .....	39
<b>第 4 章 PKA 的活性对细胞周期进程中 Cx43 蛋白与 AKAP95 蛋白相互作用关系的研究 .....</b>	<b>40</b>
4.1 实验材料 .....	40
4.1.1 实验标本收集 .....	40
4.1.2 主要试剂及耗材 .....	40
4.1.3 主要仪器及设备 .....	40
4.1.4 主要溶液的配制 .....	40
4.2 实验方法 .....	40
4.2.1 细胞爬片 .....	40
4.2.2 A549 细胞的 PKA 活性处理 .....	40
4.2.3 细胞免疫荧光 .....	40
4.3 结果 .....	41
4.3.1 细胞免疫荧光共聚焦显微镜检测 PKA 活性对 Cx43 蛋白与 AKAP95 蛋白在细胞周期进程中的定位与共定位的影响 .....	41
4.4 讨论 .....	46
4.5 结论 .....	47
<b>参 考 文 献 .....</b>	<b>48</b>
<b>致 谢 .....</b>	<b>55</b>

## Contents

<b>Abstract in Chinese.....</b>	<b>I</b>
<b>Abstract in English .....</b>	<b>II</b>
<b>Abbreviations .....</b>	<b>III</b>
<b>Chapter 1 Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Cell cycle.....</b>	<b>1</b>
1.1.1 The time phase of Cell cycle.....	1
1.1.2 The synchronization of Cell cycle .....	3
1.1.3 The blokoing agent of Cell cycle .....	4
<b>1.2 Cx43.....</b>	<b>5</b>
<b>1.3 AKAP95.....</b>	<b>7</b>
<b>1.4 PKA.....</b>	<b>10</b>
<b>1.5 Aim, research contents and significance.....</b>	<b>10</b>
<b>Chapter 2 The study of Cx43 and AKAP95 in the A549 Cell cycle progress of A549 cell .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 Materials.....</b>	<b>12</b>
2.1.1 Cell line .....	12
2.1.2 Reagents .....	12
2.1.3 Instruments.....	13
2.1.4 Primary solutions and buffers .....	14
<b>2.2 Methods .....</b>	<b>16</b>
2.2.1 Cell culture.....	16
2.2.2 IFA .....	16
2.2.3 Four bloking agent of Cell cycle deal with cell .....	17
2.2.4 Determination of Cell cycle in FCM .....	17
2.2.5 Extraction of protein .....	18
2.2.6 Measuring the protein concentration .....	18
2.2.7 Western Blot.....	18
2.2.8 CO-IP .....	19
<b>2.3 Results.....</b>	<b>19</b>

2.3.1 The condition of location and colocation of Cx43 and AKAP95 in the Cell cycle progress of A549 of IFA method .....	19
2.3.2 Bloking Effect of Four Bloking agent in A549 cell .....	21
2.3.3 Extraction of nuclear and cytoplasmic protein .....	24
2.3.4 Standard protein curve .....	24
2.3.5 The condition of expression of Cx43 and AKAP95 in the Cell cycle progress of A549 .....	25
2.3.6 The interaction of Cx43 and AKAP95 in the Cell cycle progress of A549 .....	28
<b>2.4 Discussion .....</b>	<b>29</b>
<b>2.5 Conclusion .....</b>	<b>30</b>
<b>Chapter 3 The study of the interactionCx43 and AKAP95 in the Cell cycle progress of L-O2 cell .....</b>	<b>31</b>
<b>3.1 Materials.....</b>	<b>31</b>
3.1.1 cell line.....	31
3.1.2 Reagents .....	31
3.1.3 Instruments.....	31
3.1.4 Primary solutions and buffers .....	31
<b>3.2 Methods .....</b>	<b>32</b>
3.2.1 cell culture.....	32
3.2.2 Four bloking agent of Cell cycle deal with cell .....	32
3.2.3 Determination of Cell cycle in FCM .....	32
3.2.4 IFA .....	32
3.2.5 Western Blot.....	32
3.2.6 CO-IP .....	32
<b>3.3 Results.....</b>	<b>32</b>
3.3.1 Bloking Effect of Four Bloking agent.....	32
3.3.2 The condition of expression of Cx43 and AKAP95 in the Cell cycle progress of L-O2 .....	34
3.3.3 The interaction of Cx43 and AKAP95 in the Cell cycle progress of L-O2 .....	38
<b>3.4 Discussion .....</b>	<b>38</b>
<b>3.5 Conclusion.....</b>	<b>39</b>
<b>Chapter 4 Effect of PKA activity on interaction between Cx43 and AKAP95 in A549 Cell cycle progeress .....</b>	<b>40</b>
<b>4.1 Materials.....</b>	<b>40</b>
4.1.1 Specimens .....	40
4.1.2 Reagents .....	40

4.1.3 Instruments.....	40
4.1.4 Primary solutions and buffers .....	40
<b>4.2 Methods .....</b>	<b>40</b>
4.2.1 Cells .....	40
4.2.2 Treating PKA activity of A549 cell.....	40
4.2.3 Cellular immunofluorescence .....	40
<b>4.3 Reults .....</b>	<b>41</b>
4.3.1 Effect of PKA activity on Cx43 and AKAP95 in A549 cells by immunofluorescence .....	41
<b>4.4 Discussion .....</b>	<b>46</b>
<b>4.5 Conclusion.....</b>	<b>47</b>
<b>Refernces.....</b>	<b>48</b>
<b>Acknowledgments .....</b>	<b>55</b>

## 第1章前 言

肿瘤是严重危害人类健康的疾病之一，是世界上排行第二的人类疾病“杀手”。肿瘤实际上是一种细胞周期疾病，研究发现许多癌基因和抑癌基因均可直接参与细胞周期的调控。细胞增殖是细胞最基本的生理活动，也是细胞周期的循环反复，而影响细胞的增殖，归根结底是影响了细胞周期的运行。细胞周期一旦失控，细胞会无限繁殖，引发癌变；而停止不前则又常是细胞衰老和凋亡的前奏。因此，从细胞周期的角度研究肿瘤显得尤为重要。而对肿瘤和细胞周期的研究已经成为当下肿瘤分子生物学的热点问题之一。

### 1.1 细胞周期

细胞周期（Cell Cycle）是指细胞从上一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂完成的整个过程。真核生物的细胞的一个完整的细胞周期可以分为间期和 M 期两个主要阶段。间期又可分为 DNA 合成前期（G<sub>1</sub>，含 G<sub>0</sub> 期）、DNA 合成期（S 期）和 DNA 合成后期（G<sub>2</sub> 期）。M 期为分裂期。同一细胞的细胞周期的不同时期持续时间不同，且长短不一。不同的细胞，则细胞周期的进行时间不同。如人成纤维母细胞的 G<sub>1</sub>、S、G<sub>2</sub> 和 M 期分别为 6.5h、7h、4h、4h；Hela 细胞的四个时期的时间分别为 10.5h、7h、3.5h、1h；而白血病细胞的四个时期的时间为 41h、29h、5.9h、未定<sup>[1]</sup>。一般来讲，不同细胞间，S、G<sub>2</sub> 期和 M 期的时间变化相对较小，而 G<sub>1</sub> 期的时间差异则会比较大，因此不同种细胞的细胞周期时间长短的差异主要在于 G<sub>1</sub> 期。

#### 1.1.1 细胞周期的不同时期

细胞在不同细胞周期时期下的形态、结构和功能存在着差异，而且细胞内发生的生物和化学反应也不尽相同。

G<sub>0</sub> 期是指细胞暂时处于不进行增殖的状态，在外界没有施加必要的刺激时，这种状态可以持续数周甚至数月。相反，此时细胞若受到细胞中促细胞分裂剂或

者其它条件刺激时则可以恢复增殖能力，重新进入细胞周期<sup>[2]</sup>。

G1 期是细胞周期中最长的时相。在形态上，此时的细胞体积最大，并且在细胞内有气泡。细胞中物质代谢及其活跃，在细胞内在进行着大量的生物和化学反应，可以合成许多的物质。此时会有 mRNA、rRNA、cGMP、cAMP 的合成，DNA 聚合酶、胸苷激酶等与 DNA 合成有关的酶的合成，以及组蛋白及非组蛋白 RNA 的大量合成。同时 H1 组蛋白会被磷酸化。这些合成为 DNA 的复制和细胞的分裂做准备。此外，G1 晚期还会合成一种重要的钙调节蛋白，它是酶的调节物<sup>[3]</sup>。G1 期还存在着一些关键事件，这些事件会影响 DNA 的合成与启动<sup>[4]</sup>。

S 期的细胞在形态上表面光滑。发生的主要事件是 DNA 复制，在该时相下还会发生的主要事件是组蛋白、非组蛋白等与染色体蛋白质相关物质的合成。在此过程中合成的附加组蛋白是染色体作为细胞双倍核小体所必需的。这些生物和化学事件可以保证精确的将遗传信息传给子代<sup>[5]</sup>。

G2 期的细胞的形状没有发生改变。细胞内也会合成一定的蛋白质和 RNA 分子，数量上与 G1 期相较会少很多，这些物质为细胞进入有丝分裂做准备。此时每个染色体含有四个拷贝的 DNA。G2 期末存在着内部及环境因素的检验，存在着 G2 期监测点，要检查 DNA 是否完成复制，细胞是否已生长到合适的大小，还有环境因素是否有利于细胞分裂的进行，只有当所有有利于细胞分裂的条件得到满足时，细胞才能实现 G2 期到 M 期的转化。而且一些与结构相关的物质以及相关的亚细胞结构也为进入 M 期做了必要的准备<sup>[6]</sup>。

M 期的细胞在形态上呈圆球形，此时发生的主要事件是遗传物质会随胞体一分为二，以及染色体凝集积累过程以及染色体结构的改变。M 期主要包括两大分裂过程：（1）有丝分裂。S 期已经复制好的染色体会被分配成两个新的细胞核；（2）胞质分裂。整个细胞分裂为两个子细胞。细胞胞质一分为二的过程中，细胞膜会被动变形，细胞骨架会发生变化，最终使细胞“变圆”<sup>[7]</sup>。与此同时，细胞核的结构，细胞骨架的排列方式以及细胞的形状也会发生一系列有序的变化。在有丝分裂前期时，染色体开始集缩，此时两个染色体附着在着丝点上，细胞骨架开始解体，中心体周围开始大规模的装配。纺锤体开始形成，而核膜消失，核仁解体。在有丝分裂前中期时，纺锤体与染色体的着丝点链接。在有丝分裂中期时，染色体形成赤道板，并与星状体相连。在有丝分裂后期时，姐妹染色单体分开并逐渐移向纺锤体两级部位，从而形成子代染色体，而纺锤体两级则会进一

步分离。在有丝分裂末期，染色体到达纺锤体两级，而且染色体会重新变为染色质，核膜重新形成，高尔基体开始复合。其中，胞质分裂起始于细胞分裂后期，在细胞分裂末期完成。

### 1.1.2 细胞同步化

不同种类的细胞的细胞周期进行的时间长短不同，而即使是同一种细胞，由于细胞所处的培养条件以及环境等因素的不同，也会使得细胞周期的时间有所差异。一般情况下，在同一培养条件下的细胞生长，也会处于不同的细胞周期时相中。而同一种细胞在不同的细胞周期时相下，它们的形态、结构、功能和性质不同。因此，在科学研究中，在以细胞为研究对象时，会采用一个大的细胞群体进行研究，而不是单一的细胞。然而大群体的细胞经常会在周期上有较大的差异，因此，逐渐提出了细胞同步化（synchronization）的概念，即将大部分细胞阻断于细胞周期的某一个特定的时相下进行分裂生长。细胞同步化是研究在细胞周期不同时相的形态、结构、功能等差异的重要方法。

目前许多的文献报道了多种体外培养细胞同步化的实验技术。根据细胞来源的不同和研究目的不同，可以选择相应的细胞同步化方法。体外培养细胞同步化的实验方法的基本原理都一样，是使大部分细胞停留在细胞周期的某一个时相下。哺乳动物或人的细胞的同步化方法大致可以分为物理方法和化学方法这两种。机械振动、密度梯度离心、电动离心分层、照射、温度休克（如冷休克）等方法均为物理方法，一般讲，物理方法都需要一些特定的仪器，以及提供特殊的实验环境。如机械震荡法收集 M 期细胞需要使用振荡器<sup>[8][9]</sup>。而与物理方法相比较，用化学方法阻断细胞从而获得同步化的细胞有许多优点，因为化学试剂对多种细胞均有效，同时也不需要特殊的仪器，就可以取得较高的同步化效率。化学方法有有丝分裂选择法、药物阻断法和胰酶消化等。其中药物阻断法同步化效率最高，也最简单易行。除此之外，还有些特殊的方法，如缺失法和过量法。即在体外培养细胞时，减少或增加一些物质的用量。如 G0 期细胞可由血清饥饿法获得。培养基中缺乏异亮氨酸则可将细胞阻断于 G1 期。有时是几种方法的结合使用，才可收到良好的同步化效果<sup>[10][11]</sup>。总之，可以根据不同的目标，采用最适宜的处理方法，使细胞大部分实现同步化。目前，细胞同步化技术已在人体高分辨率染色体、成熟前积聚染色体、细胞动力学以及药物敏感性的研究等方面有了广

泛的应用。尤其是在研究细胞周期调控机理方面,细胞同步化成为实验进行的首要手段。

### 1.1.3 细胞周期阻断试剂

不同时相下的细胞均可由特定的细胞周期阻断试剂获得,这些细胞周期阻断试剂大多数为抗癌药。

**G0/G1 期的阻断试剂:** 维甲酸可以使 S19 细胞停滞于 G0/G1, 原理是维甲酸能使 CyclinD1 和 CDK4 的活性受抑制<sup>[12]</sup>。100 μg/ml 的 Vp16 可将 A549 细胞阻断于 G1 期, 作用机理可能是抑制拓扑异构酶 2。含羞草碱、三尖杉酯碱、高三尖酯碱及半合成的三尖三酯碱能将白血病细胞阻断于 G1 期。羟基脲、阿糖胞苷能使 CHO 细胞阻断在 G1 期。5 μg/ml 顺铂能将人腺癌细胞 (LOVO) 阻断于 G1 期。嘌呤霉素将人肿瘤细胞阻断于 G1 期<sup>[13]</sup>。

**S 期的阻断试剂:** 羟基脲, 氨甲喋呤, 阿菲迪霉素、博来霉素、阿拉克霉素均可将细胞阻断于 S 期<sup>[14]</sup>。胸腺嘧啶 (TdR) 是一种低毒性的 DNA 合成抑制剂, 它可以特异性的抑制 DNA 的合成, 而不影响处于其他时期的细胞的细胞周期的进行, 可将被抑制的细胞同步化在 DNA 合成期。在培养的细胞中加入过量的 TdR, 能够抑制 DNA 的合成。其机制为过量的 TdR 能引起 DNA 合成的速度减慢, 而且该抑制也可以被加入的脱氧胞嘧啶解除。实验表明 TdR 可将为胃癌细胞阻断于 S 期, 大剂量氨甲喋呤、5-溴脱氧嘧啶核苷、胸腺嘧啶核苷、脱氧嘌呤、脱氧胞嘧啶核苷和 5-氨基脲等都抑制 (或是阻断) DNA 的合成, 加入细胞阻断试剂后, 若再用正常的培养液继续培养, 细胞便可同步化于 S 期。华蟾素将胃腺癌细胞和肝癌细胞阻断于 S 期。三羟基异黄酮抑制黑色素瘤 B16 细胞于 S 期<sup>[15]</sup>。

**G2 期的阻断试剂:** 烷化剂 (环磷酰胺和卡氮芥和六亚甲基二亚酰胺), 顺式铂氨, 噻氨酯啉唑均能阻断细胞于 G2 期<sup>[16]</sup>。1 μg/ml 的玫瑰树碱能使 L1210 细胞阻断于 G2 期<sup>[17]</sup>。

**M 期的阻断试剂:** 长春花碱, 紫杉醇, 秋水仙素<sup>[18]</sup>。

细胞周期阻断试剂大多是通过抑制 DNA 和蛋白质的合成, 干扰 RNA 的代谢或是调控 cAMP 的浓度来发挥作用<sup>[19]</sup>。一定浓度下药物阻断同步化方法对细胞的正常生理代谢产生的干扰是可逆的, 大剂量的试剂的使用则会使细胞死亡。



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库